OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

98

G. LUCHETTI

SUR LA MÉTHODE DE DÉTERMINATION DU POUVOIR NITRIFIANT DU TERRAIN

Estratto dal *Bollettino della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia*
Fasc. VII-VIII – Luglio-Agosto 1934

1934 - XII

G. LUCHETTI

Sur la méthode de détermination du pouvoir nitrifiant du terrain

Estratto dal « *Bollettino della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia* »
Fasc. VII-VIII - Luglio-Agosto 1934

MILANO
INDUSTRIE GRAFICHE ITALIANE STUCCHI
VIA S. DAMIANO, 16

1934

G. LUCHETTI

Sur la méthode de détermination du pouvoir nitrifiant du terrain

Estratto dal « *Bollettino della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia* »
Fasc. VII-VIII – Luglio-Agosto 1934

MILANO
INDUSTRIE GRAFICHE ITALIANE STUCCHI
VIA S. DAMIANO, 16

1934

Quelle que soit l'importance qu'on veuille attribuer à l'activité des microrganismes nitrosants et nitricants, (d'un seul mot: nitrifiants) et quelles que soient les relations entre le pouvoir nitrifiant et la fertilité du terrain, l'étude de la marche du phénomène et des améliorations à apporter aux méthodes de recherche dans le but de contribuer à l'évolution continuelle des méthodes mêmes, n'est pas dépourvue d'intérêt.

Au cours de nombreuses analyses bactériologiques des terrains, que divers chercheurs et moi même avons faites sur des échantillons différents, on n'a jamais constaté une concordance satisfaisante de résultats entre les différents essais du pouvoir nitrifiant, essais, qu'on pratique habituellement sur un même échantillon.

En effet, si l'on veut consulter attentivement les publications de notre Laboratoire portant sur la bactériologie des terrains (1), on trouvera que les différentes déterminations faites sur un même échantillon sont presque toujours plus ou moins discordantes, tandis que ces divergences ne se verifient pas dans l'appréciation d'autres activités microbiennes.

Jusqu'à présent nous avons suivi, dans notre Laboratoire, essentiellement la méthode de Barthel (2), adaptée par Perotti et Grandis (3): elle consistait, pour chaque échantillon, dans la détermination de l'HNO_3 formé, au bout de 25 jours de culture à l'étuve, séparément dans quatre ballons de 100 cmc., contenant chacun 50 cmc. de solution d'Omelianski (sulfate d'ammoniaque 2 + phosphate bipotassique 2 + eau potable 1000) et une quantité de scories, provenant de la distillation du *coke*, en quantité suffisante pour n'être pas recouverte par le liquide de culture. Chaque ballon était ensemencé avec 1 gr. de terrain à examiner et contenait, en outre, du carbonate de magnesium (4).

La constatation à laquelle je suis parvenu, a pu me persuader que la différence entre les résultats était due à la présence des scories. Cette hypothèse a été confirmée par un examen sommaire des scories que d'autre chercheurs et moi avions utilisées et qui provenaient de l'usine à

gaz de Pise. J'ai pu constater la présence abondante de matière charbonneuse, non uniformément reparti dans la masse.

Afin d'établir l'influence effective du matériel poreux sur le processus, j'ai fait quelques expériences que je vais rapporter ici.

Pour une première expérience, j'ai préparé 12 petits ballons avec de la solution d'Omelianski et j'ai ajouté, dans quatre de ces récipients des fragments de scories, dans les quatres suivants des fragments de pierre ponce, en laissant, dans les quatres derniers, le liquide seulement. J'ai enfin ensemencé chaque ballon avec 1 cmc. de dilution aqueuse à parties égales du terrain.

Voici les résultats obtenus:

	HNO^3 Gr./Litre	
	Chaque détermination	Moyenne
Contrôle (liquide seul) ..	0,2500 0,2000 0,2000 0,2000	0,2125
Scories.....	0,2500 0,2000 0,0400 0,0000	0,1225
Pierre ponce	0,0000 0,0000 0,0000 0,0000	0,0000

Cette première expérience a confirmé mon hypothèse; en effet j'ai pu constater: *que la présence des scories dans le liquide de culture peut déranger le processus de nitrification en proportions variables jusqu'à le rendre nul; qu'il n'est absolument pas possible de remplacer les scories même par la pierre ponce, car cette dernière annihile constamment le processus; qu'en éliminant le matériel poreux du milieu de culture, on obtient non seulement une uniformité bien plus notable des résultats, mais on parvient aussi à influencer favorablement la production moyenne des nitrates; que la production maxima de nitrates, en présence de scories, n'est pas plus considérable qu'en absence du matériel poreux de drainage.*

Néanmoins, j'ai voulu poursuivre mes investigations et c'est pourquoi j'ai effectué une deuxième épreuve, en procédant ainsi: quatre ballons étaient laissés sans matériel de drainage, pour le contrôle; quatre étaient préparés avec des scories; quatre avec des fragments de charbon

de bois, et enfin les quatre derniers avec un mélange de scories et de charbon de bois. Chaque ballon a été ensemencé avec 1 gramme de terrein.

Voilà les résultats:

	HNO^3	Gr./Litre
	Chaque détermination	Moyenne
Contrôle	0,7500 0,8333 0,8666 0,9166	0,8461
Scories	0,0413 0,0083 0,0083 0,3000	0.0896
Charbon de bois	0,0000 0,0025 0,0083 0,0100	0,0052
Scories + Charbon de bois	0,0041 0,0041 0,0050 0,0075	0,0052

Des résultats ci-dessus, on peut déduire: *que le témoin nous a fourni les chiffres les plus élevés et les plus uniformes; que les scories, en comparaison des témoins, ont donné des résultats extrèmement inférieurs dans leur moyenne et très discordants; que ces résultats ont encore été inférieurs en présence du charbon de bois et qu'enfin, en utilisant un mélange charbon + scories, les résultats correspondent à ceux obtenus avec le moins bon de ces matériaux, c'est-à-dire le charbon.*

Les faits établis de la sorte, j'ai essayé d'établir les causes du phénomène que j'ai attribué à une action d'adsorption, de la part du matériel de drainage, du sel ammoniacal employé dans le milieu de culture. J'ai préparé dans ce but, 6 ballons avec 50 cmc. chacun de solution d'Omeliansky; j'ai ajouté à deux de ces récipients quelques fragments de scories et à deux autres de la pierre ponce; les deux autres constituaient les témoins. J'ai soumis les ballons eux-mêmes à la stérilisation à l'étuve, à 120 C. pendant une demi-heure, comme d'habitude, et après cette stérilisation, au lieu de pratiquer les ensemencements, j'ai filtré le liquide sur papier, j'ai lavé les récipients et leur contenu solide (scories et ponce) jusqu'à disparition de la réaction de l'ammoniaque (Nessler) dans les eaux de lavage; enfin j'ai distillé séparément les six liquides ainsi obtenus, en présence de soude caustique. Lors de la distillation les quantités d'ammoniaque présentes dans les liquides ont été les suivantes:

	NH^3	$(NH^4)^2SO^4$	% de $(NH^4)^2SO^4$ ajouté	
	Grammes	Grammes	Détermination	Moyenne
Contrôle	0,0255 0,0251	0,5100 0,5020	99 97	98
Scories.....	0,0106 0,0126	0,2120 0,2520	41 49	45
Pierre ponce	0,0101 0,0109	0,2020 0,2180	39 42	41

Ces résultats nous démontrent: *que le sel ammoniacal est adsorbé par les matériaux de drainage, en quantité qui varie suivant la nature de ces matériaux, même en quelques heures seulement de contact entre le liquide et la partie solide.*

Ma thèse serait confirmée par quelques épreuves de détermination du pouvoir nitrifiant, pratiquées trois fois sur des échantillons de terrain, de nature et d'origine différentes, au moyen de cultures liquide faites dans des ballons sans drainage. Les résultats auxquels je suis parvenu montrent que les données obtenues ne comportent pas d'oscillations aussi considérables que celles qu'on a vérifiées dans des travaux analogues. On doit remarquer pourtant qu'au cours de ces essais on a utilisé, comme matériel à ensemencer, 1 gr. de terrain au lieu de la dilution, ce qui amène à des résultats par eux-mêmes moins concordants. Cette constatation ressort de la comparaison entre les résultats obtenus au cours des deux premières expériences:

Echantillon N.	HNO^3 Gr./Litre	Echantillon N.	HNO^3 Gr./Litre
1	1,0000 0,8333 0,8333	7	0,0833 0,0833 0,1239
2	0,0413 0,0413 0,0166	8	0,1652 0,2065 0,2065
3	1,6666 1,6666 2,0000	8	0,2478 0,2065 0,1652
4	0,0413 0,0826 0,1239	10	1,5000 1,0000 1,3333
5	0,1239 0,1652 0,2065	11	0,1239 0,1239 0,1239
6	1,6520 0,8260 1,1652	12	0,1239 0,2478 0,1652

Or, si dans ces résultats on note des oscillations dont le rapport maximum atteint la valeur de 1 : 3 (échantillon N. 4), on n'a pourtant pas des résultats nuls comme ceux qu'on obtenait souvent en ajoutant des scories.

L'addition des scories au milieu de culture pour la détermination du pouvoir nitrifiant du sol, préconisée par PEROTTI et GRANDIS (5) a été expérimentée par ces auteurs; d'après eux, elle serait favorable au phénomène en question. Nous allons rappeler ici à ce sujet les résultats qu'ils ont obtenus au cours de trois expériences successives:

I.re *expérience:* comparaison entre l'action du courant d'air dans le liquide; action des scories et contrôle (liquide cultural seul)sur 25 cmc. de solution d'Omeliansky.

Contrôle.....	HNO^3	Gr/Litre	0,0270
Scories.....	»	»	0,0125
Courant d'air.....	»	»	0,0487

II.e *expérience:* comparaison entre le contrôle et les scories (sur 25 cmc. de solution d'Omelianski):

Contrôle.....	HNO^3	Gr/Litre	0,0375
Scories.....	»	»	0,0375

III.e *expérience:* comparaison entre le contrôle et les scories sur 50 cmc. de solution d'Omelianski:

Contrôle	HNO^3	Gr/Litre	0,0525
Scories	»	»	0,0775

De la troisième expérience de PEROTTI et GRANDIS, il ressort avec la plus grande netteté que l'influence des scories sur le processus de nitrification est favorable.

En ce qui concerne la diversité des résultats obtenus par ces expérimentateurs et par moi-même, la seule hypothèse qu'on puisse avancer c'est qu'elle tienne à la qualité différente des scories: PEROTTI et GRANDIS ont utilisé des scories provenant des usines à gaz de Rome, alors que j'ai employé des scories provenant des usines à gaz de Pise. Il est probable que la composition des scories est très différente d'un type à l'autre pour ce qui est de leur contenu en résidus charbonneux.

CONCLUSIONS. — Des résultats de mes expériences, on peut déduire que:

1) les scories ont, sur le processus nitrifiant *in vitro*, déterminé par la méthode décrite ci-dessus, une action qui peut être tantôt nulle, tantôt peut atteindre, par contre, des limites allant jusqu'à l'empêcher totalement;

2) la pierre-ponce en fragments exerce une action nettement inhibitrice sur le même processus;

3) un même terrain peut donner des résultats concordants, pourvu qu'on élimine du milieu de culture les matériaux poreux;

4) le charbon de bois en fragments grossiers exerce une influence inhibitrice intermédiaire entre celle exercée par les scories et celle exercée par la pierre-ponce.;

5) l'action de ces matériaux est due à l'adsorption des sels ammoniacaux (et peut-être aussi des nitrates) qui ne sont même plus libérés à la suite de lavages prolongés et réitérés; l'oxydation par les microrganismes nitrifiants est donc empèchée.;

6) en utilisant, comme matériel d'ensemencement, une dilution aqueuse à parties égales de terrain, on obtient des résultats excellents et concordants. Le fait est démontré par la première expérience, où l'on ensemence 1 cmc. de dilution du même échantillon de terrain N. 5, utilisé pour ma dernière expérience.

En comparant donc mes résultats avec ceux de PEROTTI et GRANDIS, on peut conclure:

7) que la composition différente des scories est la cause de la diversité des résultats.

Tout cela peut sembler, au premier abord, en désaccord avec les résultats obtenus par BOULLANGER et MASSOL (6) qui ont trouvé que la présence de matériaux de drainage accélérait le processus de nitrification dans les conditions utilisées par eux. Toutefois le désaccord ne serait qu'apparent puisque les résultats sont fonction du « temps nécessaire à la nitrification de l'ammoniaque contenue dans le *substratum* ». Dans le cas des cultures en présence de matériaux poreux, étant donné qu'une moindre quantité de sel ammoniacal resterait à la disposition des nitrifiants, il semblerait naturel que la nitrification complète se réalisât dans un délai plus court.

RÉSUMÉ. — L'A. en étudiant la détermination du pouvoir nitrifiant d'un terrain au moyen de cultures liquides, et par la méthode BARTHEL, modifiée par PEROTTI et GRANDIS, a constaté que les scories ajoutées au milieu de culture peuvent fausser les déterminations mêmes. Cette addition arrive même, dans quelques cas, à donner des résultats nuls pour des terrains, qui, par contre, sont aptes à nitrifier. Le phénomène doit être attribué probablement à l'adsorption de sels ammoniacaux par les scories.

Laboratoire de Bactériologie. Institut Royal Supérieur Agricole de Pise.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) PEROTTI R. et VERONA O., *Prime note batteriologiche sui terreni di Maremma*, 1926; PEROTTI R. et MASTALLI F., *Studi microbiologici sui terreni della bassa Maremma della Val di Cecina*, 1927; PEROTTI R. et VERONA O., *Seconda Nota sulla batteriologia della Maremma Grossetana*, 1928; VERONA O. et MATTEONI P., *Alcune variazioni szlla microflora del terreno in conseguenza di opere di bonifica*, 1926; VERONA O., *Studi microbiologici sui terreni della campagna pisana*, 1927; VERONA O., *Sopra la microfllora e le attività microbiochimiche dei terreni della campagna pisana*, 1927; VERONA O., *Secondo contributo di ricerche sulla microbiologia dei terreni della campagna pisana*, 1928; VERONA O., *Terza Nota sulla batteriologgia dei terreni della Maremma Grossetana*, 1929; VERONA O. et DEL TREDICI A., *Ulteriori contribuzioni alla conoscenza dei terreni della bassa Val di Cecina*, 1929; VERONA O. et BAY E., *Batteriologia di alcuni terreni del Massetano*, 1930; VERONA O. et PACI S., *Contributi alla batteriologia dei terreni della Maremma di Talamone*, 1930; VEROMA O. et MALENOTTI G., *Batteriologia di alcuni terreni della Val di Cornia*, 1932; MALENOTTI G., *Analisi batteriologiche di alcuni terreni diversamente coltivati*, 1933.

(2) BARTHEL CHR., « Bodenbakteriologische Untersuchungen, *Centr. f. Bakt.*, II, XXV, (1909), 108.

(3) PEROTTI R. et GRANDIS G., « Sopra la misura del potere di nitrificazione del terreno agrario », *Rend. Acc. dei Lincei*, XXXIII, serie V, 408.

(4) PEROTTI R., « Tecnica di Biologia vegetale applicata all'agricoltura », Roma (1928), 444.

(5) PEROTTI R. et GRANDIS G., LOC. cit.

(6) BOULLÀNGER et MASSOL, *Ann. Inst. Pasteur*, 1903, 499.